

江戸時代滝台野の薬園にリンドウは栽培されていたのか
～リンドウ属の野生種と園芸種の違いを遺伝子配列から読み取る～

千葉県立薬園台高等学校 教諭 古賀直子

1 はじめに

本校の校章はササリンドウを意匠としたものだが(図1)、これは江戸時代中期、校舎のある一帯には幕府直轄の薬園があり、リンドウが栽培されたことに因んでいる。江戸幕府の享保の改革で行なわれた政策のひとつに薬草栽培と薬園の開発があった。下総小金牧の「滝台野」とよばれていた地に薬園を開いたことが薬園台の始まりである。日本で確認できるリンドウ科リンドウ属(*Gentiana*)は17種3変種、固有種は8種3変種である。ササリンドウはリンドウ【*G. scabra* var. *buergeri*】の別名で本州以南の山地に自生し、冷涼な気候を好む。本研究は、本校が平成26年に国立研究法人科学技術振興機構のサイエンス・パートナーシップ・プログラムで採択された際の「ササリンドウの生態と分子生物的手法による系統解析」の講座から得られた疑問をさらに詳しく調査研究しようとした。前研究から、リンドウが本校周辺では夏を越せず生育できないことがわかっている。しかし、本校の校章の由来は先に記した通り、「薬園台でリンドウが栽培されたこと」とあるので結果に相違がある。そこで、(1)薬園台周辺にリンドウは分布していたが、温度や塩害などの環境変化により生育できなくなった、(2)園芸種だから生育できなかったという2つの仮説をたてた。調査実験方法は(1)現在の千葉県船橋～北総地域のリンドウの分布、(2)リンドウの野生種の遺伝子配列に着目し、他種と比較、(3)リンドウの野生種と園芸種の葉緑体DNAの違いを調べ、野生種と園芸種の系統解析を行い、考察した。また本研究は、先端技術を取り入れ、本校で栽培できるリンドウをつくることを視野に入れ、保護・保全活動に繋がることを期待して行った。



本校校章

2 実施計画

【7月中旬】<研究内容説明会>

場所/薬園台高校、講師:本校職員

研究支援による新たに加える調査研究部分の説明会を行なう。目的、内容、期待される効果について説明を行なう。

【7月下旬】<講義>

場所/東邦大学、講師:大学職員

本研究に向けての予備実験(機器の説明と実験の操作)1日目:本校で栽培しているリンドウをサンプルとしてPCR法を学ぶ。

2日目:DNA解析手法についての講義。

【7月～11月】<調査>

場所/薬園台高校を中心とした広範囲にわたる地域、<実験>東邦大学、講師:東邦大学職員、TA
野外調査とサンプル処理

【8月～10月上旬】<講義>

場所/岩手大学、公益財団法人岩手生物工学研究センター 講師:大学職員

リンドウ生産量日本一の岩手での取り組みと育種について講義と現地視察

【9月下旬, 10月中旬】<発表>

場所/千葉大学

第11回高校生理科研究発表会、第2回国際研究発表会(英語)にてポスター発表。

3 実施内容

【6月30日(金)～7月19日(水)】募集

普通科、園芸科より募集した。普通科1名、園芸科生徒3名の申し込みがあった。

【7月20日(木)】説明会 11:00～12:00

これまでの研究の成果と本研究の内容と東邦大学理学部生物学科植物生態学研究室の下野綾子先生に先端技術の講義や遺伝子解析について、その手法を講義や実験で学ぶことを説明した。また、調査の実施日、および成果発表の日時の確認を行った。

【8月2日(水)】事前学習 座学 9:00~14:00
薬園台の歴史、バイオテクノロジーとはなにか、その方法や実験に使用する器具の使い方を学んだ。

【8月19日(土) 9:30~12:00】事前学習 実験

【8月20日(日) 13:00~15:30】事前学習 実験
19日、20日両日も蛍光タンパク質遺伝子組換えキット(リバネス)を活用した組み換え実験を実施し、前回の事前学習で説明した内容を確認した。

【8月28日(月)】東邦大学 13:00~14:20

本校で栽培しているリンドウ(園芸種)と以前に採取したフデリンドウと思われるものと種類不明なリンドウをサンプルとして使用した。

DNeasyを使ったDNA抽出の後、DNAの濃度測定、PCRを行った。次の機器などを使用した。

<機器など>恒温器、遠心機、マイクロピペット、チップ、乳鉢、ハサミ、チューブホルダー、
~の1.5mLチューブ、氷、マジック、チップを捨てるビーカー

<試薬の用途>

DNA抽出用の界面活性剤、タンパク質変性剤、DNA析出剤、DNA洗浄剤、DNA溶解剤、すべて緩衝液に溶かして使用した。

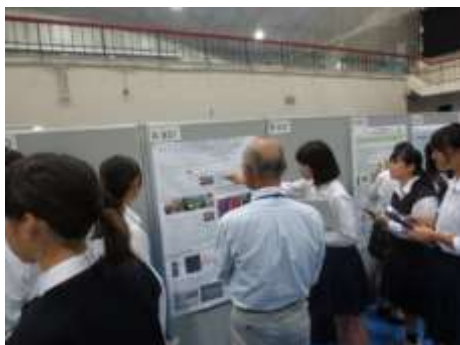


東邦大学でDNeasyの方法を学ぶ

【8月29日(火)】東邦大学 13:00~16:00

PCRの結果を電気泳動にて確認した。塩基配列の決定方法、解析方法を座学後、コンピュータを活用して行った。

【9月30日(土)】千葉大学主催第11回高校生理科研究発表会 ポスター発表を行った。



第11回高校生理科研究発表会

【10月21日(土)】野外調査 台風21号の影響で中止

【10月22日(日)】千葉大学次世代才能スキップアッププログラム 第2回国際研究発表会
台風21号の警報発令のため中止

【10月29日(日)】野外調査 天候不良のため中止
この後、予定していた11月8日(土)も天候不良のため中止した。この結果、今年度の自然状態でのリンドウの観察が出来なかった。

【2月18日(日)】千葉大学次世代才能スキップアッププログラム 第3回国際研究発表会

第2回国際研究発表会が台風で中止であったため、第3回に参加した。事後学習としてその成果をまとめ、英語にてポスター発表を行った。

4 おわりに

研究の手法について、バイテク情報普及会の助成や東邦大学理学部の協力ならびに生物学科植物生態学研究室の下野先生のご指導で、先端技術が学ぶことができた。参加した生徒は、1年生~3年生と幅があり、学習の内容も専門的ではじめて学ぶ生徒が多く、戸惑っていたが、互いに教え合う姿も見られた。実験についてもはじめて手にする器具や機器があり、生徒アンケートでは難しかったという意見が多かった。しかしその反面、おもしろかった、やりがいがあったなどという声もあった。

全体的にはほぼ計画通りに進められたと思うが、当初、今年度予定していた岩手大学や公益財団法人岩手生物工学研究センターでのリンドウ生産の取り組みと育種についての講義や現地視察は、日程が調整できず、実施が出来なかった。再度、次年度以降に調整を試みたいと思う。また、野外調査において三度の天候不良に会い、自然状態でのリンドウを観察することが出来なかったことは非常に残念であった。以前の調査では、数が減少傾向にあったため、継続的に調査を進めていきたかった。今後の展望として、リンドウ栽培の普及活動や本校生徒の他により多くの地域住民に「薬園台」という土地の名の由来を知ってもらうための方策を考え、地域貢献に努めたいと考えている。

5 謝辞

この研究活動はバイテク情報普及会の援助によって実施できた。ここに記して感謝の意を表します。

江戸時代滝台野の薬園にリンドウは栽培されていたのか ～リンドウ属の野生種と園芸種の違いを遺伝子配列から読み取る～

千葉県立薬園台高等学校

西村佳納（3年） 椋本 舞（2年） 橋本 栞（2年） 宍倉香奈（1年）

動機

本校の校章はササリンドウをモチーフとしたものである。前回の研究ではこの事に興味を持ち、現在の本校の環境下ではリンドウの生育は難しいことがわかっている。今回は前回の研究を引き継ぎ、(1)園芸種だから生育できなかった。(2)薬園台周辺にリンドウは分布していたが、温度や塩害などの環境変化により生育できなくなった。という二つの仮説を立てた。

(1)園芸種だから生育できなかった。・・・ A (2)薬園台周辺にリンドウは分布していたが、温度や塩害などの環境変化により生育できなくなった。・・・ B
として実験調査に取り組んだ

A-1)リンドウ(竜胆)とは

リンドウは本州、四国、九州に分布し、日当たりの良い草原や斜面に自生する多年草。根茎は淡黄色で、ひげ根を多数つける。茎は直立し、高さ30～60cm。葉はササの葉のような披針形で先が尖り、対生で長さ4～12cm。葉草としても知られているが、現在では園芸的改良が盛んで多くの品種が見られ、観賞用とても流通している。リンドウ生育に良い土壌は、水はけがよい酸性土壌。水切れしてしまうと根の方から腐ってしまうが水の頻度を多くし過ぎると、多湿のせいで根が腐ってしまうため土の表面が乾いたら水を与えなければいけない。



リンドウ(園芸種)



リンドウ栽培

B-1)薬園について

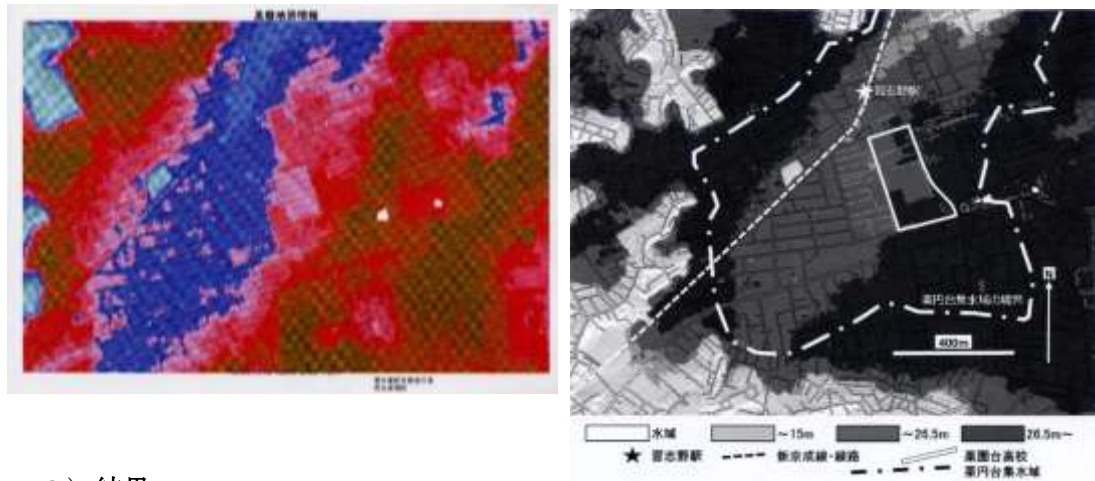
※調べていくうちにリンドウは環境変化によって生育できなくなったのではなく、地形的な問題が主であるのではないかと考えた。

正伯は滝台野(現在の薬園台町1丁目と薬園台1丁目～6丁目の範囲)の薬園の開発と薬草の栽培を指導し、太右衛門は滝野台に移り住み開発にあたった。栽培された薬草の種類など、薬園の経営は不明。また、のちに薬園は廃止され薬園台新田(正伯新田・正伯)となるが、いずれの時期も不明。

2)薬園台高校の位置と周囲の地形の特徴

中央部に標高27～28.5mの平坦な地域が広がり、そのへりは標高28.5～30m傾斜地によって取り囲まれ、本校の敷地はこの傾斜地に位置する。(図)薬園台集水域の出口は習志野駅付近のみである。

薬園台集水域
(国土地理院 HP の基盤地図情報 5m メッシュ DEM) を本校地学部が加筆



2)遺伝解析

手順 リンドウ3種(園芸品種:アシロリンドウ、種類不明なリンドウ、野生種:フデリンドウと思われるもの)を次の方法で遺伝解析する。



速やかに葉を処理

まず、DNeasy による DNA 抽出後、DNA 濃度を測定する。DNA を増幅するための PCR(ポリメラーゼ連鎖反応)の後、アガロースゲルで 100V、15 分電気泳動を行なう。次に塩基配列を調べるために、Y リストにて学名を検索する。NCBI のサイトにアクセスして、塩基配列を FASTA 形式ファイルにて取得する。次に MEGA による系統を調べる。具体的には、葉緑体ゲノム上の **rbcL 遺伝子** と **matK 遺伝子** の塩基配列を利用する。これは DNA の塩基配列によって生物を同定する方法で DNA バーコーディングとよばれる手法である。

3) 結果

詳しくは不明であるが、江戸時代に本校を中心として広い範囲で薬園の開発が進められていた。薬園の周辺は標高 28.5～30m の傾斜地となっており、本校はその斜面部分に位置している。

考察

A では (1) の仮説の証明のため本校周辺に生息するリンドウの遺伝子配列と他県から採取したリンドウの遺伝子配列を比べて本校周辺のリンドウに手が加えられていないか(園芸種)を調べる途中であり、他県から採取したリンドウの遺伝子配列を調べた今、今後の結果次第である。

B について本校は標高 28.5～30m 傾斜地によって取り囲まれている地形のため、水が溜まりやすく水はけが悪いと考える。そのため、リンドウに適した土壌ではない可能性が高い。

今後の展望

B の結果から薬園が廃止された理由として、薬園が置かれた場所は地形からリンドウの生育に適さない土壌だったと推測される。野生種と園芸種との系統は DNA の配列に変化は見られないことから、周辺のリンドウも同じ系統だと考えることができるが、さらに調査を重ねる必要である。

引用

- ・地学教育と科学運動 77号(2016年9月) p 29
- ・ヤサシイエンゲイ http://yasashi.info/ri_00009g.htm 2017年9月24日
- ・自分で採れる薬になる植物図鑑 p 185
- ・野草の名前 p 332、p 333 ・本校実施 DNA 講座資料

謝辞

本研究は、バイテク情報普及会の科学教育支援を受けた。また、東邦大学理学部生物学科植物生態研究室下野綾子先生にはリンドウ属の遺伝解析について詳しく教えていただいた。さらに薬園台高校地学部顧問斉藤尚人先生には、薬園台周辺の地質データを提供していただいた。ご支援、ご協力をいただいた皆さまに感謝申し上げます。

rbcL遺伝子

- ・リブローズ1, 5-ピスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼを構成するLサブユニット(大サブユニット)の遺伝子。
- ・還元型ペントースリン酸回路を有するすべての原核、真核光合成生物に含まれる。
- ・植物の種を識別するバーコード領域としてよく利用される。増幅させる断片は約600bp。

matK遺伝子

- ・maturaseという、自身を含むイントロンを切り取る酵素をコードしている。
- ・約1500bp
- ・rbcLとともに植物の種を識別するバーコード領域としてよく利用される。

3)結果 アガロースゲル電気泳動

500～600bp 付近に強いバンドがみられた。検体は3つともほぼ同じ位置にみられた。(図1)

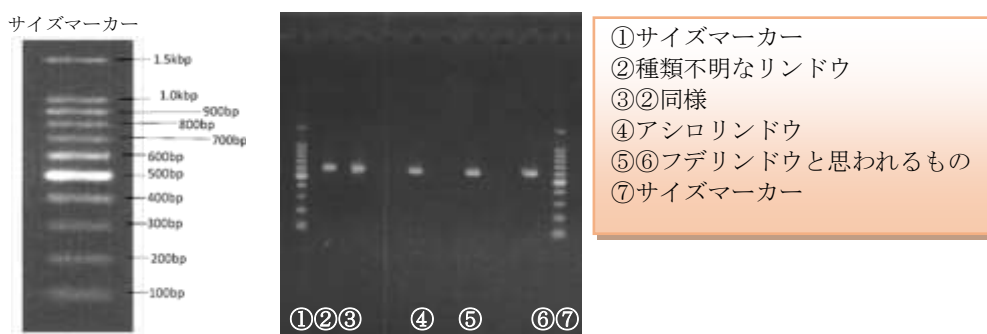


図1. 泳動像

MEGA による遺伝系統解析

3つのリンドウは全て、rbcL の配列、matK 領域の塩基配列ともにリンドウの DNA と一致した。エゾリンドウとは1塩基の違いであった。

不明のリンドウ2種は、DNA 配列からフデリンドウと思われる種と同じ遺伝子配列だということが分かった。園芸品種と野生種には DNA 配列にさほど変化が見られなかった。